IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

| In re | U.S. Patent Application of |) |
|-------|---|---|
| KOM | IATSU et al. |) |
| Appli | ication Number: To be assigned |) |
| Filed | : Concurrently Herewith |) |
| For: | SOLUTION FOR SUBSTRATE SPOTTING AND SPOTTING METHOD |) |
| Attor | ney Docket No. HIRA.0113 |) |

Honorable Assistant Commissioner for Patents
Washington, D.C. 20231

REQUEST FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. § 119 AND THE INTERNATIONAL CONVENTION

Sir:

In the matter of the above-captioned application for a United States patent, notice is hereby given that the Applicant claims the priority date of June 27, 2002, the filing date of the corresponding Japanese patent application 2002-187711.

A certified copy of Japanese patent application 2002-187711, is being submitted herewith. Acknowledgment of receipt of the certified copy is respectfully requested in due course.

Respectfully submitted,

Stanley P. Fisher

Registration Number 24,344

Juan Carlos A. Marque

Registration Number 34,072

REED SMITH LLP

3110 Fairview Park Drive Suite 1400 Falls Church, Virginia 22042 (703) 641-4200 June 23, 2003

(Translation)

PATENT OFFICE JAPANESE GOVERNMENT

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

Date of Application:

June 27, 2002

Application Number:

Japanese Patent Application

No. 2002-187711

Applicant(s):

DNA Chip Research Inc.

Hitachi Software Engineering Co., Ltd.

April 18,2003

Commissioner, Patent Office

Shinichiro OTA (seal)

Certificate No. 2003-3028766

日本 国 特 許 庁 JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office

出願年月日

Date of Application:

2002年 6月27日

出 願 番 号

Application Number:

特願2002-187711

[ST.10/C]:

[JP2002-187711]

出 願 人 Applicant(s):

株式会社ディーエヌエイチップ研究所

日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社

2003年 4月18日

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office



特2002-187711

【書類名】 特許願

【整理番号】 14A044

【提出日】 平成14年 6月27日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 G01N 33/53

【発明の名称】 基盤スポット用溶液及びスポット方法

【請求項の数】 14

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番地43 株式会

社 ディーエヌエイチップ研究所内

【氏名】 小松 康雄

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番地43 株式会

社 ディーエヌエイチップ研究所内

【氏名】 松原 謙一

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番地43 株式会

社 ディーエヌエイチップ研究所内

【氏名】 大塚 栄子

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番地43 株式会

社 ディーエヌエイチップ研究所内

【氏名】 野中 謙

【発明者】

【住所又は居所】 神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地 日立ソフト

ウエアエンジニアリング株式会社内

【氏名】 百合野 以子

【特許出願人】

【識別番号】 501002172

特2002-187711

【氏名又は名称】 株式会社 ディーエヌエイチップ研究所

【特許出願人】

【識別番号】

000233055

【氏名又は名称】 日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社

【代理人】

【識別番号】

100091096

【弁理士】

【氏名又は名称】 平木 祐輔

【選任した代理人】

【識別番号】

100102576

【弁理士】

【氏名又は名称】 渡辺 敏章

【選任した代理人】

【識別番号】 100103931

【弁理士】

【氏名又は名称】

関口 鶴彦

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 015244

【納付金額】

21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】

明細書 1

【物件名】

図面 1

【物件名】

要約書 1

【包括委任状番号】 9722155

【プルーフの要否】

要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 基盤スポット用溶液及びスポット方法

【特許請求の範囲】

【請求項1】 スポットされる生体関連物質又は化学物質を含有する溶液と、表面張力調整剤として無機微粉末を添加した溶液を混合して成る基盤スポット用溶液。

【請求項2】 前記無機微粉末が酸化ケイ素微粉末であることを特徴とする 請求項1に記載の基盤スポット用溶液。

【請求項3】 前記酸化ケイ素微粉末がシリカゲルであることを特徴とする 請求項2に記載の基盤スポット用溶液。

【請求項4】 前記無機微粉末が酸化アルミニウム微粉末であることを特徴とする請求項1に記載の基盤スポット用溶液。

【請求項5】 前記生体関連物質が、核酸、タンパク質、糖、糖タンパク質、血液、体液から選ばれることを特徴とすることを特徴とする請求項1から4のいずれかに記載の基盤スポット用溶液。

【請求項6】 前記化学物質が、医薬品、環境有害物質から選ばれることを特徴とすることを特徴とする請求項1から4のいずれかに記載の基盤スポット用溶液。

【請求項7】 前記基盤が、ガラス、プラスチック、又はセラミック製の基板、ないしは、ガラス、プラスチック、又はセラミック製のビーズから選ばれることを特徴とする請求項1から6のいずれかに記載の基盤スポット用溶液。

【請求項8】 生体関連物質又は化学物質溶液と、表面張力調整剤として無機微粉末を添加した溶液を混合したスポット溶液を基盤表面にスポットするスポット方法。

【請求項9】 前記無機微粉末が酸化ケイ素微粉末であることを特徴とする 請求項8に記載のスポット方法。

【請求項10】 前記酸化ケイ素微粉末がシリカゲルであることを特徴とする請求項9に記載のスポット方法。

【請求項11】 前記無機微粉末が酸化アルミニウム微粉末であることを特

徴とする請求項8に記載のスポット方法。

【請求項12】 前記生体関連物質が、核酸、タンパク質、糖、糖タンパク質、血液、体液から選ばれることを特徴とする請求項8から11のいずれかに記載のスポット方法。

【請求項13】 前記化学物質が、医薬品、環境有害物質から選ばれることを特徴とする請求項8から11のいずれかに記載のスポット方法。

【請求項14】 前記基盤が、ガラス、プラスチック、又はセラミック製の基板、ないしは、ガラス、プラスチック、又はセラミック製のビーズから選ばれることを特徴とする請求項8から13のいずれかに記載のスポット方法。

【発明の詳細な説明】

[0001]

【発明の属する技術分野】

本発明は、ガラス、プラスチック、セラミック等をはじめとする固定基盤上に 生体関連物質及び医薬品をはじめとする種々の化学物質を固定化するための、基 盤スポット用溶液及びスポット方法に関する。

[0002]

【従来の技術】

ガラス基盤上に種々の遺伝子由来のDNAを固定化したものは、DNAチップと呼ばれ生体内での遺伝子発現パターンを解析する手段となっている。このDNAチップには、長鎖PCR産物を基盤上に固定化したcDNAチップと、100塩基以下の鎖長よりなる合成一本鎖オリゴヌクレオチドを固定化したオリゴヌクレオチドチップがある。後者のオリゴヌクレオチドチップには、基盤上で合成する方法も行われている。しかしながら、合成オリゴヌクレオチドを精製しないため、基盤上でのオリゴヌクレオチド合成は純度の面で劣るといった欠点を有している。そこで合成オリゴヌクレオチドを精製後、基盤上にスポットする方法がある。このスポット方法は、cDNAチップにおいても用いられている方法であり、検体数が多くない場合、また高い純度のオリゴヌクレオチドを固定化する場合には有効である。

[0003]

核酸又はタンパク質を基盤上にスポットするには、先端が極めて細く加工されたピン又はインクジェット法によるスポット等がある。いずれの場合も、基盤に上にスポットされたスポットの液滴が広がり過ぎる場合、高密度に多種類の物質をスポットすることが不可能となる。これまで有機溶媒を混合させ、あるいは塩強度を上げた溶液を用いるなどしてスポット溶液としていた。しかしながら、いずれの場合もスポットされた液滴は充分に小さな内径をもったものとはなっていなかった。

[0004]

【発明が解決しようとする課題】

上記背景から、本発明の課題は生体関連物質又は様々な化学物質を高密度に基盤上に固定化するための基盤スポット用溶液及びスポット方法を提供することにある。

[0005]

【課題を解決するための手段】

本発明者は、鋭意研究した結果、スポット用溶液に特定の表面張力調整剤を添加することで上記課題が解決されることを見出し、本発明に到達した。

第1に、本発明の基盤スポット用溶液は、スポットされる生体関連物質又は化 学物質を含有する溶液と、表面張力調整剤として無機微粉末を添加した溶液を混 合して成る。

第2に、本発明のスポット方法は、生体関連物質又は化学物質溶液と、表面張 力調整剤として無機微粉末を添加した溶液を混合したスポット溶液を基盤表面に スポットする。

[0006]

本発明において、表面張力調整剤として用いられる無機微粉末は、スポット溶液に添加されてその表面張力を高めることで、スポットが周辺に広がることを抑制し、スポット直後とほぼ同じ半径のスポット円で溶液が蒸発・乾燥するものである。表面張力調整剤として望ましい無機微粉末の性質は、微粉末であって、スポット後に生体関連物質又は化学物質の測定時に測定の邪魔とならないこと、白色又は白色に近い色相であって生体関連物質又は化学物質の測定時に測定の誤差

とならないこと、不純物が少なく生体関連物質又は化学物質と非反応性であること、比重が重く表面張力と相まってスポットの広がりを防止すること等である。

[0007]

本発明で用いられる無機微粉末としては、酸化ケイ素微粉末、特にシリカゲルが好ましく例示される。その他、酸化アルミニウム微粉末が好ましく例示される。更に、酸化チタン、チタン酸鉛、酸化ジルコン、硫化亜鉛、酸化アンチモン、酸化亜鉛、鉛白、リトポン、塩基性炭酸亜鉛、酸化マグネシウム、沈降硫酸バリウム、硫酸カルシウム(無水、2水塩)、タルク、炭酸カルシウム、カオリンクレー、マイカ、水酸化マグネシウム、ベントナイト、ドロマイト、炭酸カルシウム、塩基性炭酸マグネシウム、含水ケイ酸カルシウム、湿式法ホワイトカーボン等の微粉末が例示される。

[0008]

本発明に用いる無機微粉末は、溶解性の点から 2000 μ m未満の粒径を有するものが好ましい。 2000 μ mを越えるとスポット後の測定の邪魔となる。特に、無機微粉末の粒径が、100~400 μ mであるものが好ましい。

同様に、無機微粉末は、溶解性の点でメッシュ数が1~400のものが好ましい。

無機微粉末として、シリカゲルを用いる場合は、孔径10~1000Åの多孔質であることが好ましい。

[0009]

シリカゲルの具体例としては、Wakogel c300(和光純薬工業株式会社の商品名)等が挙げられる。

本発明においてスポットされる生体関連物質としては、核酸、タンパク質、糖、糖タンパク質、血液、体液等が好ましく例示される。また、化学物質としては、医薬品や環境有害物質等が好ましく例示される。ここで、環境有害物質とは環境ホルモン、ダイオキシンなどである。

[0010]

本発明において、スポット用溶液がスポットされる基盤としては、ガラス、プラスチック、又はセラミック製の基板、ないしは、ガラス、プラスチック、又は

セラミック製のビーズから選ばれる。

[0011]

【発明の実施の形態】

以下、実施例を示して本発明を説明する。

実施例1

Wako gel c300 (和光純薬工業株式会社の商品名)を滅菌水に溶解させ飽和溶液を調製した。この飽和溶液1mLと0.5M炭酸緩衝液(pH9.

- 0)を等量混合し、スポッティング溶液を作製した。下記の
- 5' d(TGTGGAATTGTGAGCGGATAAC)3'
- 5' 末端アミノ化オリゴヌクレオチド(1) (20μM, 10μL) とスポッティング溶液(10μL) を混合し、スポッター(SPBIO2000、日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社の商品名。SPBIOは登録商標) によって、スライドガラスにスポットした。

[0012]

<u>実施例2</u>

中性シリカゲルを滅菌水に溶解させ飽和溶液を調製した。この飽和溶液 1 m L と 0.5 M炭酸緩衝液(p H 9.0)を等量混合し、スポッティング溶液を作製した。5 末端アミノ化オリゴヌクレオチド(1)($20 \mu \text{M}$, $10 \mu \text{L}$)とスポッティング溶液($10 \mu \text{L}$)を混合し、スポッター(SPBIO2000、日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社の商品名。SPBIOは登録商標)によって、スライドガラスにスポットした。

[0013]

実施例3

酸化アルミニウム(Alumina)を滅菌水に溶解させ飽和溶液を調製した。この飽和溶液 1mL Ellowoodle O . 5M 炭酸緩衝液(pH9 . 0)を等量混合し、スポッティング溶液を作製した。5 、末端アミノ化オリゴヌクレオチド(1)(20 μ M , 10 μ L)とスポッティング溶液(10 μ L)を混合し、スポッター(S PBIO2000、日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社の商品名。<math>SPBIO4 登録商標)によって、スライドガラスにスポットした。

[0014]

実施例4

タイトボックスにろ紙を敷き、300mMリン酸水素二ナトリウム水溶液を湿らせ、溶液が付かないように実施例1、2あるいは3においてスポットされたスライドガラスを入れ、密閉後37℃で放置した。16時間後タイトボックスからスライドガラスを取り出しドライオーブンに移し60℃で15分間加温した。

[0015]

実施例5 オリゴヌクレオチドスポットガラスのブロッキング

スライドガラスを0.1% Triton X (200mL)で室温5分間、0.05%塩酸水溶液(200mL)で室温2分間、0.1M 塩化カリウム(200mL)で室温10分間、滅菌水(200mL)で室温1分間洗浄した。

続いて1M トリス-グリシン溶液(pH=9.0)にガラスを浸し、室温で1時間攪拌しブロッキングを行った。滅菌水で洗浄後、ドラフト内で乾燥させて冷蔵保存した。

[0016]

実施例6(Су5標識オリゴヌクレオチドとのハイブリダイゼーション)

5X SSC、0.5% SDSに溶解した下記

5' d(TGTGGAATTGTGAGCGGATAAC)3'

化学合成Cy5標識オリゴヌクレオチド(2)(0.2μM)を、実施例1、2 において調製したスライドガラス上にのせた後、カバーグラスを溶液上にのせ、 室温で2時間放置した。

[0017]

ハイブリダイゼーション後、チップを4×SSC, 0. 1%SDSで5分間、続いて2×SSC, 0. 1%SDSで10分間洗浄した。乾燥させた後、チップスキャナー(Scan Array、A Packard BioScience Company の商品名)で検出した。検出結果を図1に示す。図1のA、B、Cは、異なるスポット溶液に溶解しスポットされたオリゴヌクレオチド(1)とCy5オリゴヌクレオチド(2)とのハイブリダイゼーションを行った。いずれも同じ溶液に溶解させたものを3回スポットしている。図1Aは、炭酸バッフ

ァーのスポット溶液、Bは、炭酸バッファー+50%飽和シリカゲル溶液のスポット溶液、Cは、炭酸バッファー+25%飽和シリカゲル溶液のスポット溶液である。

[0018]

図1より、シリカゲル溶液を添加したスポット溶液は、広がりやにじみが少な いことが分かる。

以下、他の実施例を示す。

図2は、本実施例の全体を示すスキームである。

[0019]

実施例7 スライドガラスの洗浄

スライドガラス(10枚)を10%水酸化ナトリウム水溶液(200mL)に 15分間浸した後、水(200mL)、1%塩酸水溶液(200mL)の順で洗 浄した。メタノール(200mL)に浸し5分間の超音波洗浄を行い、遠心によ って乾燥させ、更に120度で2時間減圧乾燥した。

[0020]

実施例8 アミノプロピルシラン化

乾燥させたスライドガラスを3-アミノトリメトキシシラン(13mL)、水(8mL)、メタノール(380mL)中に浸し、室温で少なくとも5時間攪拌させた。その後スライドガラスを取り出し、メタノール(200mL)で2回洗浄して遠心後、120度で2時間減圧乾燥させた。

[0021]

実施例9 イソチオシアネート化

あらかじめ1,4-フェニレンジイソチオシアネート(1836mg)を10% ピリジン・ジメチルフォルムアミド溶液(190mL)に溶解させ、これに上記 スライドガラスを入れ、室温下16時間攪拌させた。スライドガラスを取り出し 、ジメチルフォルムアミド(200mL)、ジクロロメタン(200mL)、メ タノール(200mL)の順で洗浄し、減圧下乾燥させ、実施例10のイソチオ シアネート化に供した。

[0022]

実施例10 デンドリマー化

デンドリマーとしてPAMAM(Aldrich)を用い、以下の反応を行った。実施例3でアミノ化されたスライドガラスをガラス容器に敷き、そこに10%PAMAMメタノール溶液(130 μ L)を滴下し、密封して37度で5時間反応させた。その後スライドガラスをメタノール(200 μ L)で2回、アセトン(200 μ L)で1回洗浄し、減圧下1時間乾燥させた。

[0023]

実施例11 デンドリマーコーティング後のイソチオシアネート化

実施例10で得られた上記スライドガラスを、実施例9と同様の反応を行い、 イソチオシアネート化し、オリゴヌクレオチドのスポットに供した。

[0024]

実施例12

実施例9で得られたスライドガラスをガラス容器に敷き、そこに20または30% トリス(3-アミノプロピル)アミン・メタノール溶液(130μL)を滴下し、密封して37度で5時間反応させた。その後スライドガラスをメタノール(200mL)で2回、アセトン(200mL)で1回洗浄し、減圧下1時間乾燥させた。

[0025]

<u>実施例13 3-アミノプロピルアミンコーティング後のイソチオシアネート化</u> 実施例12で得られた上記スライドガラスを、実施例9と同様の反応を行い、 イソチオシアネート化し、これをオリゴヌクレオチドのスポットに供した。

[0026]

実施例14 オリゴヌクレオチドのスライドガラスへのスポットと結合反応

オリゴヌクレオチドライブラリー(80pmol; MWG Biotech A G社製)を滅菌水(4μ L)に溶解し、スポット溶液(4μ L; 1M 炭酸緩衝液(pH9.0):飽和Wako gel C-300(和光純薬工業株式会社の商品名)水溶液=1:1)と混合させ、スポッター(SPBIO2000、日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社の商品名、SPBIOは登録商標)によって実施例11、13によって得られたコーティング済みスライドガラス上にス

ポットした。スポット後タイトボックスにろ紙を敷き、300mMリン酸水素二ナトリウム水溶液を湿らせ、溶液が付かないようにスポット済みのスライドガラスを入れ、密閉後37℃で放置した。16時間後タイトボックスからスライドガラスを取り出しドライオーブンに移し60℃で15分間加温した。

[0027]

実施例15 オリゴヌクレオチドスポットガラスのブロッキング

スライドガラスを0.1% Triton X (200mL)で室温5分間、0.05%塩酸水溶液(200mL)で室温2分間、0.1M 塩化カリウム(200mL)で室温1分間洗浄した。

続いて1M トリス-グリシン溶液(pH=9.0)にガラスを浸し、室温で1時間攪拌しブロッキングを行った。滅菌水で洗浄後、ドラフト内で乾燥させて冷蔵保存した。

[0028]

(参考例) 逆転写反応

蛍光標識オリリボヌクレオチドを用いた逆転写反応

マウス肝臓由来のtotal RNA(100μg)を逆転写反応用oliodotプライマー(2μL;0.5μg/μL)と滅菌水に溶解して全量を30μlとし、これを70度で5分間、42度で2分間加温した。その後あらかじめ調製しておいた色素を含む溶液(50μL;逆転写反応用緩衝液(x5、250mM Trish pH8.3、375 mom Cl、15 mom McGill2、50 mom DTT:16μL)、0.1M ジチオスレイトール(8μL)、10xdNTP溶液(8μL;2mM dTTP、5mM dATP、5mM dCTP、5mM dGTP)、1mM Cy3-dUTP又はCy5-dUTP(8μL)、Raze inhibitor(10μL;40units/μL))を上記RNA溶液と混合し、続けて逆転写酵素(1μL、200units;Superscript II RNase H=;GIBCOBRL)を添加し42度で加温した。1時間後、上記逆転写酵素0.5μLを更に加え、42度で1時間反応させた。この反応液に滅菌水(40μL)、0.5MEDTA(10μL)、1N NaOH(20μL)を加え、65度で30分間加温し

、1M Tris-HCl (pH7.5;50μL)と1N HCl (15μL)を加え中和し、氷冷した。エタノール沈殿を行った後、滅菌水 (50μL)を加え、Microcon P30 (BIO RAD社の商品名)により脱塩した。 溶出液をSpeed Vacで濃縮した。

[0029]

実施例16 マウス肝臓mRNAから調製したcDNAとのハイブリダイゼーション

参考例に従って調製された蛍光標識 c DNAに20 X SSC (10μ L) 、 10% SDS (0.4μ L) 、 及び滅菌水を加え全量 40μ Lのプローブ溶液を作成した。そのプローブDNA溶液を静かにDNAチップ上にのせた後、カバーグラスを溶液上にのせ、40度で16時間放置した。

[0030]

ハイブリダイゼーション後、チップを1×SSC-0.05% SDS溶液(40度)に10分間洗浄し、続いて0.2 x SSC (200mL)、0.05 x SSC (200mL)でそれぞれ室温で洗浄した。乾燥させた後、チップスキャナー(Scan Array、A Packard Bioscience Companyの商品名)で検出した。マウス肝臓由来のRNAをCy3-dUTP又はCy5-dUTPで標識したcDNAを調製し、オリゴヌクレオチドチップによって解析した結果、緑色がCy3、赤色がCy5の検出波長の結果であった。

[0031]

実施例17 オリゴヌクレオチドのスライドガラス上への固定化の確認

1 mM Cy5-dump $(4 \mu \text{L})$ 、ジメチルスルフォキシド $(4 \mu \text{L})$ 、25 mom 塩化コバルト溶液 $(4 \mu \text{L})$ 、反応緩衝溶液 (x 5, 1 M) カコジル酸カリウム、25 momトリス-塩酸、1.25 mg/BSA、 pH6.8;8 μL)、ターミナルトランスフェレース(50 units)に滅菌水を加えて全量 $40 \mu \text{L}$ とした反応溶液を調製後、直ちにスライドガラスに全量滴下した。カバーガラスを反応液上にのせ、37度で放置した。15 分後 4 XSSCバッファー(0.6 MNaC1、0.12 Mクエン酸二水和物)、0.1% SDS溶液、5

特2002-187711

0%メタノール水溶液で洗浄し乾燥させ検出機(スキャンアレイ)で測定した。

[0032]

【発明の効果】

本発明の基盤スポット用溶液及びスポット方法によれば、スポットの広がりと にじみを抑制し、生体関連物質又は様々な化学物質を高密度に基盤上に固定化す ることが出来る。

[0033]

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> Hitachi Software Engineering Co., Ltd.
DNA Chip Research Inc.

<120> Spotting Solution and Spotting Method

<130> 14A044

<140>

<141>

<160> 2

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 1

tgtggaattg tgagcggata ac

22

<210> 2

<211> 22

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 2

gttatcggct cacaattcca ca

22

【図面の簡単な説明】

【図1】

図1Aは、炭酸バッファーのスポット溶液、Bは、炭酸バッファー+50%飽和シリカゲル溶液のスポット溶液、Cは、炭酸バッファー+25%飽和シリカゲル溶液のスポット溶液である。

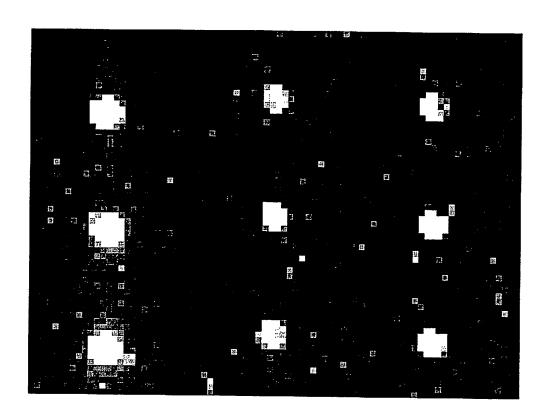
【図2】

本実施例の全体を示すスキームである。

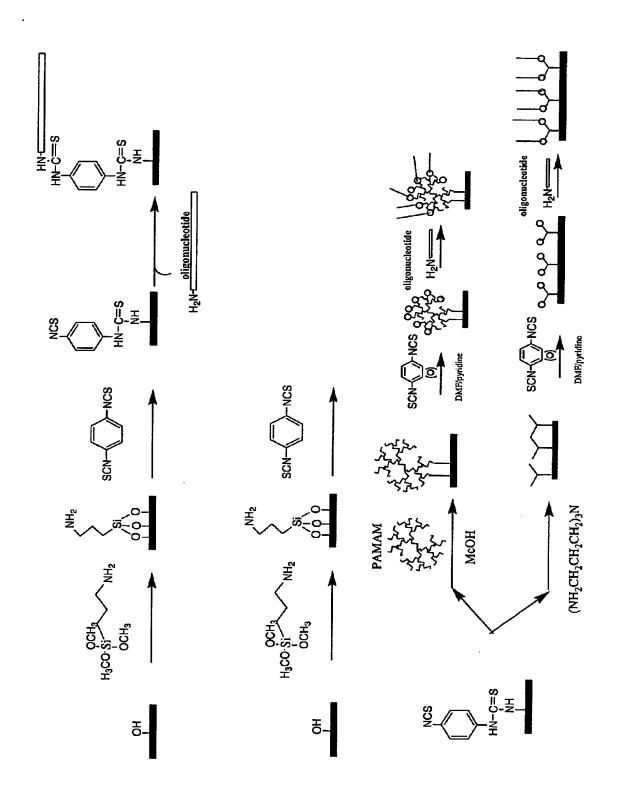
【書類名】 図面

【図1】

A B C



【図2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 生体関連物質又は様々な化学物質を高密度に基盤上に固定化するため の基盤スポット用溶液及びスポット方法を提供する。

【解決手段】 スポットされる生体関連物質又は化学物質を含有する溶液と、表面張力調整剤として無機微粉末を添加した溶液を混合して成る基盤スポット用溶液、及びスポット方法。

【選択図】 図1

出願人履歷情報

識別番号 [501002172]

1. 変更年月日 2002年 3月 4日 [変更理由] 住所変更

住 所 神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番地43

氏 名 株式会社ディーエヌエイチップ研究所

出願人履歴情報

識別番号

[000233055]

1. 変更年月日

1990年 8月 7日

[変更理由] 新規登録

住 所

神奈川県横浜市中区尾上町6丁目81番地

氏 名

日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社

2. 変更年月日

2002年10月11日

[変更理由]

住所変更

住 所

神奈川県横浜市鶴見区末広町一丁目1番43

氏 名

日立ソフトウエアエンジニアリング株式会社